

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

特表平7-505894

第3部門第2区分

(43) 公表日 平成7年(1995)6月29日

(51) Int.Cl.⁶

A 6 1 K 38/21

C 0 7 K 14/52

識別記号

A B Y

A D U

庁内整理番号

8318-4H

8314-4C

F I

A 6 1 K 37/ 66

A B Y

A D U

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 15 頁)

(21) 出願番号 特願平5-518710

(86) (22) 出願日 平成5年(1993)4月14日

(85) 翻訳文提出日 平成6年(1994)10月14日

(86) 国際出願番号 P C T / U S 9 3 / 0 4 4 7 1

(87) 国際公開番号 W O 9 3 / 2 1 2 2 9

(87) 国際公開日 平成5年(1993)10月28日

(31) 優先権主張番号 8 6 8 , 9 1 6

(32) 優先日 1992年4月15日

(33) 優先権主張国 米国 (U S)

(71) 出願人 アムジエン・インコーポレーテッド

アメリカ合衆国、カリフォルニア・91320

-1789、サウザンド・オークス、デハビル

ランド・ドライブ・1840、アムジエン・セ

ンター

(72) 発明者 ブラット、ローレンス・エム

アメリカ合衆国、カリフォルニア・93003、

ベントウーラ、ノース・ブレント・ストリ

ート・389

(74) 代理人 弁理士 川口 義雄 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インターフェロンで病気を治療するための副作用の少ない方法および組成物

(57) 【要約】

一般にインターフェロン治療に関わる重大な副作用を引き起こすことなく細胞増殖障害、ウィルス性感染および他の症状を治療する方法において、治療を必要とする患者に治療上有効な量のコンセンサスヒト白血球インターフェロンを投与することを含む方法を開示する。また、コンセンサスヒト白血球インターフェロンの医薬組成物も開示する。

1. インターフェロンにより治療可能な症状を有する患者を治療する一方で、インターフェロン投与に関わる1つ以上の副作用を減少または除去する方法において、該患者に治療上有効な量のコンセンサスヒト白血球インターフェロンを投与することを含む前記方法。
2. 前記症状が、細胞増殖障害またはウィルス性疾患であることを特徴とする請求項1に記載の方法。
3. 前記ウィルス性疾患が、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎またはデルタ型肝炎であることを特徴とする請求項2に記載の方法。
4. 前記ウィルス性疾患が、ヒト免疫不全ウィルス、ヘルペスウィルス、乳頭腫、ポックスウィルス、ニコルナウィルス、アデノウィルス、ライノウィルス、HTLV I、HTLV II およびヒトロタウィルスから成る群から選択されることを特徴とする請求項2に記載の方法。
5. 前記副作用が、頭痛、発熱、悪寒、吐気、食欲不振、抑うつ症および不眠症から成る群から選択されることを特徴とする請求項1に記載の方法。
6. コンセンサスヒト白血球インターフェロンの治療上有効な量が、患者一人につき $6 \times 10^6 \sim 15 \times 10^6$ 単位であることを特徴とする請求項1に記載の方法。
7. 患者がヒトであることを特徴とする請求項1に記載の方法。
8. さらに、治療上有効な量の化学療法剤を投与することを含むことを特徴とする請求項1に記載の方法。
9. さらに、治療上有効な量のG-CSFを投与することを含むことを特徴とする請求項1に記載の方法。
10. 治療上有効な量のコンセンサスヒト白血球インターフェロンおよび薬剤的に許容されうる希釈剤、アジュバント、担体、保存剤または溶剤を含んでなる組成物。
11. コンセンサスヒト白血球インターフェロンがIFN- α_1 、IFN- α_2 およびIFN- α_3 から成る群から選択されることを特徴とする請求項17に記載の組成物。
12. コンセンサスヒト白血球インターフェロンがIFN- α_1 であることを特徴とする請求項17に記載の組成物。
13. コンセンサスヒト白血球インターフェロンが外因性DNA配列の原核生物による発現産物である

る請求項1に記載の方法。

6. 細胞増殖障害がヘアリーセル白血病または慢性骨髄性白血病であることを特徴とする請求項2に記載の方法。
7. 細胞増殖障害がカポジ肉腫であることを特徴とする請求項2に記載の方法。
8. コンセンサスヒト白血球インターフェロンがIFN- α_1 、IFN- α_2 およびIFN- α_3 から成る群から選択されることを特徴とする請求項1に記載の方法。
9. コンセンサスヒト白血球インターフェロンがIFN- α_1 であることを特徴とする請求項1に記載の方法。
10. コンセンサスヒト白血球インターフェロンが外因性DNA配列の原核生物による発現産物であることを特徴とする請求項1に記載の方法。
11. 治療上有効な量を、経口、静脈内、筋肉内、皮下、鼻腔内または病巣内投与することを特徴とする請求項1に記載の方法。
12. コンセンサスヒト白血球インターフェロンの治療上有効な量が、患者一人につき $2 \times 10^6 \sim 30 \times 10^6$ 単位であることを特徴とする請求項1に記載の方法。

17. 組成物

17. ことを特徴とする請求項17に記載の組成物。
18. 経口、静脈内、皮下、鼻腔内、筋肉内または病巣内投与に適する請求項17に記載の組成物。
19. 注入可能な溶液または凍結乾燥粉末として供給される請求項17に記載の組成物。
20. さらに、治療上有効な量のG-CSFを含む請求項17に記載の組成物。
21. 1種以上の用量制限毒性を生じさせることなくインターフェロンを用いてウィルス性症状を治療する方法であって、治療を必要とする患者に治療上有効な量のコンセンサスヒト白血球インターフェロンを投与することを含む前記方法。
22. 一般にインターフェロン治療に関わる重大な副作用を引き起こすことなく細胞増殖障害またはウィルス性感染を治療する方法であって、治療を必要とする患者に治療上有効な量のコンセンサスヒト白血球インターフェロンを投与することを含む前記方法。

インターフェロンで病気を治療するための
副作用の少ない方法および組成物

本発明は、コンセンサスヒト白血球インターフェロンを使用して病気を治療する方法に関する。本発明はまた、病気を治療するのに適したコンセンサスヒト白血球インターフェロンの医薬組成物に関する。

発明の背景

インターフェロンは、抗ウィルス活性および抗増殖活性の両方を有するサイトカインのサブクラスである。生化学的特性および免疫学的特性に基づき、ヒトインターフェロンは、インターフェロン- α （白血球）、インターフェロン- β （繊維芽細胞）およびインターフェロン- γ （免疫性）の3種に分けられる。別個のアミノ酸配列を有する少なくとも14個の α -インターフェロン（サブタイプA-H）が、単離およびこれらのポリペプチドをコードするDNAの塩基配列決定により同定されている。 α -インターフェロンは、抗ウィルスおよび抗腫瘍性増殖抑制作用を有するため、効力のある治療薬としてかなり注目されている。

AとB、およびAとF）を含むハイブリッド α -インターフェロン遺伝子の構築は、米国特許第4,414,150号、第4,456,748号および第4,678,751号に開示されている。

米国特許第4,695,623号および第4,897,471号は、天然に存在する α -インターフェロンのサブタイプのポリペプチドの間で各位置に存在する共通または主要なアミノ酸を含むアミノ酸配列を有する新規ヒト白血球インターフェロンのポリペプチドを開示しており、これをコンセンサスヒト白血球インターフェロン（IFN-con）という。開示されたIFN-conアミノ酸配列は、IFN-con₁、IFN-con₂およびIFN-con₃と名付けられている。IFN-conをコードする製造遺伝子の合成および該遺伝子の大腸菌での発現も開示されている。

大腸菌で産生されるIFN-con₁の精製は、Ilieら（J. Chromatog. 154, 105-115 (1988)）に記載されている。この方法で精製されたIFN-con₁は、T98Gヒト細胞系を使用する細胞毒性作用阻害アッセイで測定した比活性が 3×10^5 単位/mg蛋白であることが報告されている（Fisk et

al., J. Interferon Res. 9, 97-111 (1989)）。精製IFN-con₁は、等電点電気泳動での測定により3つのイソ型を含み、それらは、メチオニルIFN-con₁、デス-メチオニルIFN-con₁およびN-末端がアセチル基でブロックされたデス-メチオニルIFN-con₁と同定されている（Ilie et al., Arch. Biochem. Biophys. 276, 531-537 (1990)）。

全血のパフィング成分から単離したヒト白血球からのインターフェロンの精製は、米国特許第4,503,035号に記載されている。この方法で製造したヒト白血球インターフェロンは、異なるヒト白血球インターフェロンのアミノ酸配列の混合物を含む。精製物質の比活性は、MDBK牛細胞系上で測定した場合は $0.9 \times 10^5 \sim 4 \times 10^5$ 単位/mg蛋白であり、Ag1732ヒト細胞系上で測定した場合は $2 \times 10^5 \sim 7.6 \times 10^5$ 単位/mg蛋白である。細胞毒性作用の阻害アッセイを使用してインターフェロンの抗ウィルス活性を測定することが米国特許第4,241,174号に開示されている。測定されたインターフェロン活性は、米国国立衛生研究所（NIH）によるヒト白血球インターフェロンの参照基準に対して校正された。

ヒト白血球インターフェロンの少なくとも一部をコードする塩基配列を含む組換えDNAプラスミドの構築およびヒト白血球インターフェロンの免疫学的活性または生物学的活性を有するポリペプチドの大腸菌での発現は、米国特許第4,530,901号に開示されている。

異なるサブタイプの塩基配列の組み合わせ（例えば、AとD、

al., J. Interferon Res. 9, 97-111 (1989)）。精製IFN-con₁は、等電点電気泳動での測定により3つのイソ型を含み、それらは、メチオニルIFN-con₁、デス-メチオニルIFN-con₁およびN-末端がアセチル基でブロックされたデス-メチオニルIFN-con₁と同定されている（Ilie et al., Arch. Biochem. Biophys. 276, 531-537 (1990)）。

α -インターフェロンは、現在、米国および他の国で、ヘパリーセル白血病、性病いぼ、カボジ肉腫（一般には、後天性免疫不全症候群（AIDS）患者を苦しめる癌）、および慢性非A非B型肝炎の治療に対して承認されている。2種類の α -インターフェロンが治療用途において承認されており、インターフェロン α -2aがRoferon-Aの商標で、インターフェロン α -2bがINTRON Aの商標で市販されている。Roferon-AおよびINTRON Aのアミノ酸配列は1つの位置で異なるが、他は、 α -インターフェロンのサブタイプ2（サブタイプA）のアミノ酸配列と同一である。

ラベルの指示の他に、 α -インターフェロンは、単独または、慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、皮相膀胱癌、皮膚癌（基底

細胞癌および悪性黒色腫)、腎細胞癌、卵巣癌、悪性度の低いリンパ球性および皮膚性T細胞リンパ腫、ならびにグリオームなどの他の種々の細胞増殖性疾患における化学療法剤と組み合わせて使用または評価されている。 α -インターフェロンは、肺、結腸直腸および乳癌で生じる充塞性腫瘍の治療のための他の化学療法剤と組み合わせても有効であると考えられる(Rosenberg et al., "Principles and Applications of Biologic Therapy" in Cancer: Principles and Practices of Oncology, 3rd ed., DeVita et al., eds. pp. 501-517 (1989), Salner DCC, AntiPharmacother 24, 761-768 (1990))。

α -インターフェロンは、正常および異常な細胞でのDNA複製ならびにRNAおよび蛋白質合成などの種々の細胞機能に影響を及ぼすことが知られている。すなわち、インターフェロンの細胞毒性作用は、腫瘍またはウイルス感染細胞に制限されず、正常で健康な細胞でも同様に示される。その結果、インターフェロン治療中、特に高用量を必要とする場合は、好ましくない副作用が生じる。インターフェロンの投与は骨髄抑制を招き、その結果、赤血球細胞、白血球細胞および血小板のレベルが低下する可能性がある。インターフェロンの用量が高いと、

通常は、インターフェロン様の症状(例えば、発熱、疲労感、頭痛および悪寒)、腎臓障害(例えば、食欲不振、吐気および下痢)、めまいおよび咳が出る。該治療の治療上の利点を少なくすることなく、インターフェロン治療の望ましくない副作用が減少または除去できれば有益である。

従って、本発明の目的は、インターフェロンでの治療が可能な症状の治療において、通常 α -インターフェロン治療と関連づけられる望ましくない副作用が、現在実用化されている治療法と比較してかなり少ないか、完全に除去される治療である。本発明の別の目的は、現在実用化されている治療法と比較して、望ましくない副作用の頻度または程度の付随的增加が実質的になく、インターフェロンによる疾病の治療において高められた治療効果を達成することである。

発明の要旨

本発明は、哺乳類、好ましくはヒトに、治療上有効な量のコンセンサス(consensus) ヒト白血球インターフェロン(IFN-con)を投与することに係る、インターフェロンでの治療が可能な種々の症状の治療法を包含する。本発明は、IFN-conが、 α -インターフェロンの場合と同程度の副作用を思

者に引き起こさないという発見に基づくものである。本発明に従って治療可能な症状とは、一般に、 α -インターフェロンによる治療に感受性の症状である。言い換えると、IFN-conは、Intron(登録商標)Aなどの α -インターフェロンにより治療できる症状と実質的に同じ症状を治療するのに有用である。例えば、以下のものに限定されないが、細胞増殖障害およびウイルス性感染などの症状が挙げられる。IFN-conは、癌と関連づけられることが多い細胞増殖障害の治療に有効である。そのような障害としては、以下のものに限定されないが、ヘアリーセル白血病およびカポジ肉腫が挙げられる。IFN-conは、単独、または、癌および他の増殖性障害を治療するための他の治療薬と組み合わせて使用することができる。好ましい態様では、IFN-conは、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、顆粒球/マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、インターロイキン-1(IL-1)、インターロイキン-3(IL-3)、インターロイキン-6(IL-6)、エリトロポエチンおよび幹細胞因子(SCF)などの骨髄細胞の増殖または分化を刺激する治療上有効な量の1種以上の因子とともに使用される。G-CSFが

IFN-conとの使用に好ましい因子である。

IFN-conにより治療可能なウイルス性症状としては、以下のものに限定されないが、A型肝炎、C型肝炎、他の非A非B型肝炎、B型肝炎、ヘルペスウイルス(EB、CMV、単純ヘルペス)、乳頭腫、ポックスウイルス、ピコルナウイルス、アデノウイルス、ライノウイルス、HTLV-I、HTLV-II、およびヒトロタウイルスが挙げられる。

上記症状が α -インターフェロンにより治療できることは以前に認められているが、そのような治療に伴う副作用のために、そのような治療の総合的な有用性はかなり限られる。エプスタインバー感染などの幾つかの場合は、 α -インターフェロン治療に伴う副作用が、 α -インターフェロンを使用する治療を実質的に不可能にしている。すなわち、本発明のための、IFN-conにより治療できる症状としては、 α -インターフェロン治療が何らかの効力を示すが、負の副作用が治療による利益よりも勝るために、公知のインターフェロンでは治療不可能である症状を含む。本発明者らは、コンセンサスヒト白血球インターフェロン(IFN-con)から選択される天然に存在しないインターフェロンによる治療が、 α -インターフェ

ロンによる治療と比較して副作用を顕著的に減少し、または除去することを見出し、本明細書に開示する。副作用の減少または除去は、期待どおり、治療される症状に関係なく実施される。IFN-conに対して見出された副作用の減少または除去は、公知文献で報告された結果に基づいて予想できるものではなかった。本明細書に示す実際の臨床結果は、IFN-conが α -インターフェロンと同じ用量レベルのときに副作用を減少または除去するだけでなく、用量の制限につながる副作用を起こすことなく3~5倍量のIFN-conを投与することができ、ることを明らかに示す。

さらに、IFN-conは、以下に示すように、上述したINTRON Aと活性が同じであるか、より高い。特に、IFN-conは、INTRON Aより高い抗増殖活性を示す。従って、IFN-conを使用する細胞増殖障害の治療は、現在使われているインターフェロン治療と比較して、高められた効力および安全性を示す。治療上有効な量のIFN-conを投与すると、現在使われている方法と比較して、細胞増殖障害の治療は、より迅速に、またはより広範囲になり、関与する望ましくない副作用の頻度または程度の付随的増加は生じない。

10、50および100 ng/mlで添加した。

図8は、INTRON A、IFN-con₁またはIFN-con₂およびr-metGCSFで治療したカボジ肉腫患者により達成された最初および現在のMTD中央値を示す。

発明の詳細な説明

本明細書において、コンセンサスヒト白血球インターフェロン(IFN-con)は、天然に存在しないポリペプチドを意味し、それは、天然に存在する全ヒト白血球インターフェロンサブタイプの塩基配列に共通するアミノ酸配列を主に含み、全サブタイプに共通のアミノ酸がない1個以上の位置では、主にその位置で生じるアミノ酸を含み、少なくとも1個の天然に存在するサブタイプのその位置には現存しないアミノ酸は含まないものである。IFN-conは、以下のものに限定されないが、IFN-con₁、IFN-con₂およびIFN-con₃と名付けたアミノ酸配列を含み、それらは、米国特許第4,695,623号および第4,897,471号に開示されている。それらの全記載を参考として本明細書中に取り込むものとする。IFN-conをコードするDNA配列は、上記特許の記載または他の標準的方法に従って合成することがで

さらに、治療上有効な量のIFN-conは、現在使われている処方で使用されるインターフェロンの量より少ない可能性もある。その結果、場合によっては、用量を少なくしたIFN-conにより、高用量の他のインターフェロンと同じ治療効果が得られ、現在使われているインターフェロン治療に係わる望ましくない副作用は減少または除去される。

IFN-conは、抗増殖活性を有する、天然には存在しないポリペプチドである。好ましくは、IFN-conが、IFN-con₁、IFN-con₂またはIFN-con₃のアミノ酸配列を有するポリペプチドである。最も好ましくは、IFN-conが、IFN-con₁のアミノ酸配列を有する。

本発明はまた、治療上有効な量のIFN-conを、適当な希釈剤、アジュバント、担体、保存剤および/または溶解剤とともに含む医薬組成物に関する。

図面の簡単な説明

図1~7は、ヘアリーセル(hairy cell)白血病の細胞系であるEskolに対するIFN-con₁および比較物質であるINTRON Aの抗増殖活性を示す。インターフェロンは、Eskol細胞懸濁液に、各々、0.1、0.5、1、5、

きる。

IFN-conポリペプチドは、好ましくは、製造したDNA配列を宿主細胞、特に大腸菌中に形質転換またはトランスフェクションして発現させた物質である。すなわち、IFN-conは、組換えIFN-conである。IFN-conは、好ましくは、大腸菌で産生して、当業者には公知の方法で精製する。IFN-con₁に関してはKleisら、上掲(1188)に一般的に記載されている。精製したIFN-conは、アイソフォームの混合物を含んでもよく、例えば、精製IFN-con₁は、メチオニルIFN-con₁、デス-メチオニルIFN-con₁、およびN-末端がブロックされたデス-メチオニルIFN-con₁の混合物を含む(Kleisら、上掲(1188))。あるいは、IFN-conは、特定の単離されたアイソフォームを含んでもよい。IFN-conのアイソフォームは、当業者に公知の等電点電気泳動などの方法で互いに分離される。

本発明は、 α -インターフェロンにより治療可能な症状を治療し、一般に α -インターフェロン治療に関わる1つ以上の副作用を減少または除去する方法であって、治療上有効な量の

IFN-conを患者に投与することを包含する前記方法を提供する。本発明の好ましい実施態様は、治療上有効な量のIFN-con₁、IFN-con₂またはIFN-con₃を投与することを含む治療法である。最も好ましくは、治療上有効な量のIFN-con₁を投与する。

「インターフェロン投与に関わる1つ以上の副作用の減少または除去」は、当業者であれば明らかであり、理解できるものと考えられる。一般に、その副作用プロフィールがインターフェロンの種類によって異なるかどうかを決定するには、インターフェロン治療に関わる副作用の数および程度の種々の尺度を使用することができる。コンセンサスインターフェロンとの比較に適するインターフェロンは、INTRON（登録商標）A（インターフェロン α-2b、Schering-Plough 製）である。

副作用の程度を評価する便利な方法は、WHO（世界保健機関）により承認された標準スケールを使用すべきである。臨床医が現在広く使用しているスケールは、次に示す副作用の増悪レベルを利用したものである。すなわち、グレードI：軽度；グレードII：中度；グレードIII：重度；グレードIV：生命に危険。これらの評価には若干の主観性が含まれるが、同

と感じる。

IFN-conによる治療に適する症状としては、種々の細胞増殖障害、特に種々の癌が挙げられる。これらの障害には、以下のものに限定されないが、ヘアリーセル白血病、カポジ肉腫、慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、皮相膀胱癌、皮膚癌（基底細胞癌および悪性黒色腫）、腎細胞癌、卵巣癌、悪性度の低いリンパ球性および皮膚性T細胞リンパ腫、ならびにグリオームが含まれる。

IFN-conによる治療に適する他の症状としては、種々のウィルス性疾患がある。これらの疾患としては、^{以下のも}に限定されないが、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、非A非B型肝炎（B型またはC型肝炎以外）、エプスタイン-バーウイルス感染、HIV感染、ヘルペスウィルス（EB、CMV、単純ヘルペス）、乳頭腫、ポックスウィルス、ニコルナウィルス、アデノウィルス、ライノ（rhino）ウィルス、HTLV I、HTLV II、およびヒトタウウィルスが挙げられる。

IFN-conは、単独、または本明細書に記載した症状の治療のための他の治療薬と併用して使用することができる。例えば、IFN-conは、治療上有効な量の、ブスルファン、

一の臨床医が患者の評価を行うならば、2つの薬の副作用の比較は有効であり、医者には許容され得ると考えられる。比較するために、医者は、ある薬のある用量レベルでの投与が用量制限毒性（DLT）を招くかどうかを見ることが多い。DLTは、患者がある副作用に耐えられないと判断したときに発生する。これが発生すると、医者は用量を少なくする（Intron Aまたはコンセンサスインターフェロンの場合は、典型的には3ミリオン単位まで）か、一定の期間、薬の投与を止めた後、同用量または低用量で再び投与を行う。ともかく、DLTになると、その結果は、効力が最適より低い代替の治療法となる。すなわち、副作用の減少を現出する別の方法は、ある用量レベルでのDLTの減少数を参照することである。実施例3では、Intron Aとコンセンサスインターフェロンとの間のDLTの比較を表す。副作用プロフィールの他の尺度も使用できるが、結果は同じであり、他のインターフェロン、特にIntron AおよびRoferon（登録商標）（Hoffmann-La Roche）などのα-インターフェロンと比較すると、コンセンサスインターフェロンのDLTは減少し、一般に、病気の治療に有用である全用量レベルで患者は良好である

5-フルオロウラシル（5-FU）、ジドブジン（AZT）、ロイコポリン、メルファラン、プレドニゾン、シクロホスファミド、ダカルバジン、シスプラチンおよびジビリダモールなどの1種以上の化学療法剤とともに投与することができる。IFN-conはまた、インターロイキン-2（IL-2）などのサイトカインとともに投与することもできる。

治療上有効な量のIFN-conは、インターフェロンによる治療中に認められる骨髄抑制の影響を打ち消すように骨髄細胞の分化を刺激する治療上有効な量の1種以上の因子とともに投与してもよい。そのような物質としては、以下のものに限定されないが、G-CSF、GM-CSF、IL-1、IL-3、IL-6、エリトロポエチンおよびSCFが挙げられる。幹細胞因子（SCF）は、初期の造血前駆細胞の増殖を刺激し、米国特許出願第573,616号に記載されている。該特許出願は、参考として本明細書に取り入れる。

下記実施例1〜3で、IFN-con₁がヘアリーセル白血病およびAIDS関連カポジ肉腫に対して有効な抗増殖剤であることを示す。

ヘアリーセル白血病細胞系であるEsko1細胞上で調

定したIFN-con₁およびINTRON Aの抗増殖活性を実施例1に示す。IFN-con₁の抗増殖活性が広い濃度範囲にわたってIntron Aより大きいことがわかる。同様の結果が、IFN-con₁をRoferon Aと比較したときにも得られた。これらの結果は、IFN-con₁をIntron Aと同じ濃度で投与すると、治療効果がより大きいことを示す。あるいは、Intron Aと同じ治療効果を示すには、低い濃度のIFN-con₁でよい。

実施例2は、AIDS関連カポジ肉腫の治療におけるIFN-con₁とINTRON Aとの比較実験を記載する。IFN-con₁を投与した患者の単位用量は、INTRON Aを投与した患者より高かった。さらに、IFN-con₁およびGCSFの両方を投与した患者のIFN-con₁用量は、IFN-con₁のみを投与した患者より高かった(図8参照)。この実験では、HIV感染の治療の一部として、全患者にAZTを投与した。AZTのみの投与は、カポジ肉腫に対して効果がない。

IFN-con₁は、IFN-con₁を投与するとグレード3の毒性が減少することから判断して、INTRON Aより

り安全であることが示された。IFN-con₁による治療は、INTRON Aによる治療と比較して肝中球減少症および肝機能不全の発生率の減少を示し、IFN-con₁およびr-metGCSFによる治療はグレード3の毒性を完全に除去した(表2参照)。

実施例3は、肝炎に感染した患者を含む臨床試験から得たデータを示す。

治療上有効な量のIFN-conを、高濃度的に許容されうる担体、アジュバント、希釈剤、保存剤および/または溶解剤とともに含む医薬組成物も提供する。IFN-conの医薬組成物は、ある範囲のpHおよびイオン強度を有する種々の緩衝液(例えば、トリス-HCl、酢酸塩、リン酸塩)、担体(例えば、ヒト血清アルブミン)、溶解剤(例えば、トウイーン、ポリソルベート)および保存剤(例えば、チメロサル、ベンジルアルコール)を含む。一般に、医薬組成物の成分は、インターフェロンおよび他の抗増殖剤または抗ウィルス剤とともに通常使用されるものから選択することができ、当業者であれば周知である。IFN-conの医薬組成物は、注入可能な溶液または、注入する前に適当な希釈剤に溶解する凍結乾燥粉末とし

て提供される。

IFN-conの治療上有効な量は、IFN-con製剤の半減期、投与方法およびテストされる症状などの変数を考慮して、当業者により決定することができる。一般に、細胞増殖障害治療のためのIFN-conの治療上有効な量は、患者一人当たり $2 \times 10^6 \sim 60 \times 10^6$ 単位の範囲で、1週間に数回投与される。その範囲の中で低い用量はヘアリーセル白血病の治療に有効であり、高い用量はカポジ肉腫の治療に適する。治療上有効な量のIFN-conにより、好ましくは、少なくとも6か月の間に、癌の特定の種目に依存して20~80%の癌が寛解する。一般に、ウィルス性症状の治療のためのIFN-conの治療上有効な量は、患者一人当たり $3 \times 10^6 \sim 30 \times 10^6$ 単位、好ましくは $6 \times 10^6 \sim 15 \times 10^6$ 単位の範囲で、1週間に数回(例えば、2~7回、好ましくは3回)投与される。

投与方法は、好ましくは哺乳類の血液への注入により、その注入は、静脈内、筋肉内、皮下または病巣内である。経口投与または鼻からの投与でもよい。所与の医薬組成物の与えられた投与方法に対する適応性は、当業者であれば明らかである。

以下の実施例により、本発明をさらに詳しく説明するが、下記の実施例は本発明の請求の範囲を限定するものではない。

実施例1

IFN-con₁およびIntron (登録商標) Aの抗増殖活性

IFN-con₁およびIntron Aの抗増殖活性を、Indiana University Medical SchoolのDr. E. Sroogにより単離されたヘアリーセル白血病細胞系のEskol細胞系に対してテストした。Eskol細胞の3ml培養を37℃、RPMI培地(Gibco)中、5%のCO₂を含む10%牛胎児血清中で12時間、 1×10^5 細胞/mlでインキュベートした。IFN-con₁またはIntron A(インターフェロン α -2b; Schering Corp.)を添加して、100 μ lの培地での最終蛋白質濃度を0.1~100 ng/mlとした。IFN-con₁の蛋白質濃度は、Bradfordの蛋白質分析法(Bradford, Anal. Biochem. 72, 248-254 (1976))によって測定し、Intron A濃度は、製造者提供の比活性(2×10^8 IU/mg蛋白質)および単位濃度から計算した。生きた細胞数は、24時間ごとに、トリパンブルー(Sigma)

の排除により測定した。100 μ l IFN-con₁ または Intron A を24時間ごとに添加して、指示した最終濃度にした。生きた細胞数は、4回の独立実験の平均をとり、各実験は2本のサンプルを使用した。細胞数の変化は、24~48時間での約5%からより長い時間での約2%までの範囲であった。図1~7に示す結果は、種々の時間での、インターフェロンの存在下、または非存在下での生きた細胞数の割合を%で示したものである。

生きた細胞数は、IFN-con₁ または Intron A の存在下でインキュベートしたEskol細胞への³H-チミジンの取り込みを測定することにより確認した。120時間インキュベートした後、200 μ lの細胞懸濁物を取り出し、5 μ Cl/mlの³H-チミジン(Amersham)の存在下で、37℃、3時間インキュベートした。細胞をCambridge細胞ハーベスタ(Cambridge Technology)により集めて、蒸留水で7回、95%エタノールで2回洗浄し、取り込まれた³H-チミジンの量を液体シンチレーション計数により測定した。IFN-con₁ または Intron A の存在下で120時間インキュベートしたEskol細胞による³H-チミジンの

取り込み量(実数)は細胞生存数に比例した。

実施例2

カポジ肉腫(KS)患者に投与したIFN-con₁の安全性、耐性および効力

IFN-con₁の安全性および耐性を評価し、最大耐性量(MTD)を規定するために、ランダムなオープンラベル試験(randomized, open-label study)を行った。IFN-con₁およびIntron Aを各々、ジドブジン(AZT)とともに、AIDS関連KS患者に投与した。さらに、IFN-con₁の安全性、耐性およびMTDは、AZTおよび、大腸菌産生による、ポリペプチドのアミノ末端にメチオニン残基を有する組換え顆粒球コロニー刺激因子(r-metGCSF)とともに投与したときも測定した。その実験の3つの処置群は次の通りであった。

1. Intron AおよびAZT
2. IFN-con₁およびAZT
3. IFN-con₁、AZTおよびr-metGCSF

各処置群は、少なくとも12人の評価可能な患者を含む。

A. 物質の説明

IFN-con₁は、米国特許第4,695,623号および第4,897,471号に記載の方法を使用して大腸菌で産生した。IFN-con₁は、Kleissら、上海(1988)に一般的に記載された方法により精製した。この実験での皮下投与のために、IFN-con₁は、リン酸ナトリウム緩衝液中での滅菌蛋白質溶液として供した。必要であれば、滅菌生理食塩水で希釈した。

ジドブジン(AZT)は、Burroughs-Wellcome Co.から購入し、そのパッケージに入っている指示に従って使用した。

Intron Aは、Schering Corp.から、滅菌した凍結乾燥組成物として購入した。これは、パッケージに入っている指示に従って希釈剤に再懸濁した。

r-metGCSFは、米国特許第4,810,643号に一般的に記載されている方法を使用して大腸菌で産生した。該特許は、参考として本明細書に取り入れる。r-metGCSFは、10mM酢酸ナトリウム、5%マンニトールおよび0.004%トウイーン80における滅菌蛋白質溶液(pH4.0、濃度0.3mg/ml)として調製した。必要

であれば、滅菌した5%グルコース水溶液(D₅W)で希釈した。

B. 用量およびスケジュール

AZT: AZTは、全患者に100mgの固定用量で4時間ごとに経口投与した。毎日、目覚めている間に全5回の投与、すなわち500mgの用量である。

r-metGCSF: r-metGCSFを含む処置群に対して無作為に抽出した患者に対するr-metGCSFの用量は、1 μ g/kg体重/日であり、一回のボラス(bolus)注射として皮下投与した。必要であれば、この用量を1 μ g/kg/日(6 μ g/kg/日を超えない)の量で増加したり、0.5 μ g/kg/日以下の量で減少したりして、5,000~15,000/mm³の絶対好中球数(ANC)目標範囲を達成した。

インターフェロン: 患者には、エスカレータ式用量計画に従ってIFN-con₁またはIntron Aを投与した。用量は、等しい単位のどちらかのインターフェロンに基づいた。しかし、2つのインターフェロンの比活性は異なる(米国特許第4,695,623号に記載の抗ウィルス細胞障害分析によ

り測定すると、Intron Aの場合は 2×10^6 IU/mgであり、IFN-con₁の場合は少なくとも 1×10^6 IU/mgである。)ので、ある用量での蛋白質の重量(mg)はIntron AおよびIFN-con₁で異なる。使用したエスカレータ式用量計画は、下記表1に示す。各用量レベル(IU)に対応する蛋白質の量(mg)も各インターフェロンに対して表1に示す。

表 1

Intron A および IFN-con ₁ のエスカレータ式用量計画 用 量 レベル	IFN-con ₁ の用量 × 10 ⁶ IU	蛋白質の量 (mg)	
		INTRON A	IFN-con ₁
1	3	0.015	0.003
2	9	0.045	0.009
3	12	0.060	0.012
4	15	0.075	0.015
5	18	0.090	0.018
6	21	0.105	0.021
7	24	0.120	0.024
8	27	0.135	0.027
9	30	0.150	0.030

や他の判定により患者の実験取り止めが承認されるまで続けた。

維持治療の間は、毒性の結果として2つのインターフェロンの用量減少が許可された。2つの薬の用量減少の後には、さらにインターフェロンの用量を変えることができず、さらに減少する必要がある患者は、そのプログラムから外した。この方法の例外は、用量制限毒性が好中球減少症(約1週間のうちの2日間がANC $\leq 1000/mm^3$)の場合であった。この場合は、インターフェロンの用量をさらに減少することなく患者の実験を続けたが、r-metGCSFを投与していない患者には、r-metGCSF治療を $1 \mu g/kg$ 体重/日の皮下投与で開始した。すでにr-metGCSFの処置をした群の患者の場合は、r-metGCSFの投与量を次に高いレベルに増加した($1 \mu g/kg$ の増加)。

C. 患者の選択

合計49人の患者を実験に登録した。個々の患者は、包含および排除の全基準を満たした後にのみ登録される。包含のための重要な基準は、HIV感染が血清学的に証明され、カポジ肉腫が皮膚および口に測定可能な病変を有して組織病理学的に確認され、免疫機能が許容可能であり(CD₄リンパ球レベルで

上記で示した3つの各処置群の患者に対して、IFN-con₁またはINTRON Aの投与を用量レベル1でスタートし、1週間毎日行った後、次に高い用量レベルに上げた。用量の増加は、8、15、22、29、36、43、50および57日目に行った。増加は、各患者のインターフェロンのMTDまたは一日の最大用量が 30×10^6 IUに達するまで続けた。個々の患者のMTDは、用量制限毒性が生じる用量以下の用量レベルとして定義した。毒性は、WHOによって確立され、さらに Miller ら、Cancer 47, 210-211 (1981) に記載されている基準を使用して0(毒性なし)~4(急性毒性)にランク分けした。用量制限毒性は、少なくともインターフェロンに関連する可能性があると判断されるグレード3または4の不利な事象として定義した。24時間未満の発熱および悪寒、疲労感、頭痛またはグレード2以下の毒性は、個々の患者に耐えられない症状であると決定されない限り、MTDの規定には使用しなかった。

用量増加期が終了すると、患者のMTDまたは達成されるならば 30×10^6 IUの最大用量で毎日投与することから成る維持治療を患者に対して続けた。維持治療は、病気の進み具合

測定)、およびAZT治療が1年未満であることである。

患者が実験から除外される理由としては、用量増加期にグレード3以上の毒性が二次的に発生したり、個々の患者のMTDを測定した後に維持治療を施して用量制限毒性が三次的に発生したり、KSが悪化することが挙げられる。

D. IFN-con₁ および Intron A の MTD の測定

1~9週間の実験、続く維持治療および適切であれば用量の減少の間、上述したエスカレータ式用量計画を使用して、3つの処置群に対するINTRON AおよびIFN-con₁の最初および現在のMTD中央値を測定した(図8参照)。各群は15人の患者から成る。グループ1(Intron AおよびAZT)は、用量増加中の最初のMTDが 9×10^6 IUであり、現在のMTDは 6×10^6 IUであり、グループ2(IFN-con₁ およびAZT)は、最初および現在のMTDが 15×10^6 IUであり、グループ3(IFN-con₁、r-metGCSFおよびAZT)は、最初および現在のMTDが各々、 24×10^6 IUおよび 21×10^6 IUであった。

E. Intron A および IFN-con₁ 治療の安全性の評価

INTRON A および IFN- α_1 治療の安全性を、インターフェロン用量の減少を必要とする不利な影響の大きさによって求めた。結果を表2にまとめる。

表 2

3つの処置群において用量の低下を促す毒性

	発 生 率 (%)		
	Interon® A	IFN- α_1	IFN- α_1 + r-metGCSF [*]
グレード2 不耐性 (127例の症例)	20	7.0	6.5
グレード3 好中球減少	40	10	0
グレード3 肝機能テスト	30	10	0

* IFN- α_1 ならびに IFN- α_1 および r-metGCSF 処置群の値 (%) は、合計が 100% にならない。これは、これらの群の何人かの患者は、不利な影響を受けることなく 30×10^6 IU の最大用量に達したからである。

実験開始以後、明らかに Interon A または IFN- α_1 の投与による毒性のために実験を外された患者はいない。

ランク付けされている：グレード I (軽)、グレード II (中)、グレード III (重) およびグレード IV (生命に危険)。タイプ I の IV の範囲に及ぶ。タイプ I のインターフェロン治療中の毒性が患者または医師によって我慢できないものであると判断されると、用量の減少または用量スケジュールの変更がなされる。これらの用量の変更は、次善の治療処方となり、その結果、効能は最善なものより小さくなる。コンセンサスインターフェロンは、最善の投与量を達成することができ、治療期間中、どんなグレードの用量制限毒性も伴うことなくそれを維持することができる。

コンセンサスインターフェロンを使用して慢性 C 型肝炎を治療するための臨床試験を開始して、いくつかの用量の薬の効果を調べた。コンセンサスインターフェロンで治療した患者から得たデータを、同じ主要研究者がインターフェロン $\alpha-2a$ (Interon®) またはインターフェロン $\alpha-2b$ (Intron® A) で治療した、同様の病気で同様の人口統計的 (demographic) 特徴を有する患者から得たデータと比較した。

試験計画：その試験は、高められた (正常値の上限の少なくとも 1.5 倍) アラニントランスフェラーゼ (ALT: 肝臓の

F. IFN- α_1 および INTRON A 治療の効能の測定

抗腫瘍反応：抗腫瘍反応は、AIDS 臨床試験グループ (ACTG) 腫瘍学委員会の標準反応基準 (Irra et al., J. Clin. Oncol. 7, 1201-1207 (1989)) を使用して、4 か月の治療後に評価した。

免疫機能：CD₄ リンパ球の計数を試験中の 6 か月間、毎月行い、HIV 感染に対する患者の免疫反応を評価する。

3つの全処置群において、カポジ肉腫病変の反応と CD₄ リンパ球レベルは同等であった。

実施例 3

C 型肝炎 (HCV) 患者に投与した IFN- α_1 の安全性、耐性および効能

改善された用量耐性：タイプ I のインターフェロンによる治療はいくつかの副作用を引き起こし、特定の病気の治療のために与えることができる絶対用量が制限される。これらの副作用としては、インフルエンザ様 (flu-like) 症状、下痢、骨髄抑制、高められた肝機能テストおよび精神状態の変化が挙げられる。これらの毒性は、WHO (世界保健機構) によって次のように

酵素) レベルを示す少なくとも 30 人の HCV 感染患者を含んでいた。この試験での正常値の上限は、35 mU/ml である。さらに、IFN- α_1 の効能は、PCR 分析により抗ウィルス活性を測定し、また治療の間の ALT 値を測定することにより評価した。最後に、他の組換えインターフェロン α 、特に組換えインターフェロン $\alpha-2a$ (Interon®) およびインターフェロン $\alpha-2b$ (Intron® A) の HCV 臨床研究から得られた歴史的データを、安全性および ALT 値の変化に関して、本試験で得られたデータと比較した。

適格な患者を、表3にまとめた IFN- α_1 用量コホート (cohorts) の一つに入れた。

表 3

IFN- α_1 用量 ミリオン単位 (MU)	投与回数 / 7 日 [*]	患者数
3	3	5
6	3	5
9	3	5
12	3	5
15	3	5

* 投与は少なくとも 4 時間間隔で行う。

用量コホート間は2週間間隔とし、次に、用量コホートを登録した。特定的には、5人の患者を最初のコホートに登録し、IFN-con₁に起因するグレードIII以上の毒性が認められない場合は、2週間の安全性を評価し、5人の患者は次のコホート(6MU)に登録した。しかし、IFN-con₁に起因するグレードIII以上の毒性を有する患者が認められた場合は、さらに3人の患者を最初のコホートに登録して2週間評価した。IFN-con₁に起因するグレードIII以上の毒性が認められない場合は、患者を次のコホート(6MU)に登録したが、IFN-con₁に起因するグレードIII以上の毒性がさらに認められると、患者は次に高い用量コホート(6MU)には登録しなかった。9、12、15、18および24MUコホートへの段階的増大は、上述した規則と同様に進めた。さらに、どれかの用量レベルで二人以上の患者がグレードIII以上の毒性にかかった場合は、そのコホートにさらに患者を登録しないで、そのコホートまたはより高い用量レベルでの試験治療をすでに受けている患者の用量を、グレードIII以上の毒性が二人以上発生するレベル以下の用量レベルに下げた。しかし、別の患者も脱けて(合計10人まで)、グレードIII以上の毒

性が二人以上発生するレベル以下の用量レベルで登録してもよい。

いずれかのコホートの患者が、2週間の最初の評価中、またはその後にIFN-con₁に起因するグレードIIIの毒性にかかると、その毒性がグレードII以下に下がるまでIFN-con₁を差し控えた。次いで、治療を次に低い用量レベルで再開した。その患者がグレードIIIの毒性の際に3MU用量で投与されていたならば、治療を2MUで再開した。患者がIFN-con₁に起因するグレードIVの毒性にかかると、その患者は試験から除いた。患者は、試験治療中に3回の用量減少を受けることができた(2MUの用量レベル以下への減少はない)。毒性のために4回目の用量減少が必要な患者は、試験治療から除かれる。24時間未満の発熱および悪寒、疲労感、頭痛またはグレードII以下の毒性は、個々の患者にとって我慢ができないと決定されないならば、用量制限毒性とは考えなかった。薬は、(トレーニングが首尾良く終わった後)患者または第三者が家庭で投与した。

3か月で、ALTレベル変化に基づく反応に対して患者の評価を行った。

結果:

患者を上記コホートに入れて登録した。3、6、9および12MU用量群の場合、最初の2週間は、各々、用量制限毒性が認められなかった。最初の2週間の投与中に15MUが投与された患者一人に用量制限毒性が認められた。認められた毒性は、グレードIIの我慢できない「インフルエンザ様」症状であった。その患者は、用量を12MUに減少した。

コホートおよび従来のIFN-α2の患者の各々に対する、12週間治療した場合の用量制限毒性は次の通りであった。

表 4

IFN-con ₁ の用量 (ミリオン単位)	DLT%	毒 性
n=4 3	0	—
n=5 6	0	—
n=5 9	0	—
n=5 12	20%	「インフルエンザ様」
n=5 15	20%	「インフルエンザ様」
n=19 3 MU IFN-α 2	32%	「インフルエンザ様」

上記表に示すように、一週間に3回、3～15MUの用量で

IFN-con₁を投与した患者は、IFN-α2を投与した患者よりも用量制限毒性にかかる割合が小さかった。IFN-α2は、この例では3MUまでしか実証されていないので、より高用量レベルのIFN-α2での臨床的比較を行うことはできなかった。しかし、高用量レベルでのDLT数は、IFN-α2の場合、かなり高くなると予想される。

表 5

12週間治療した後の反応

IFN-con ₁ の用量 (ミリオン単位)	反 応 率
n=4 3	25%
n=5 6	60%
n=5 9	80%
n=5 12	60%
n=4 15	75%
n=19 3 MU IFN-α 2	67%

* 完全反応 + 部分反応

上記表に示すように、一週間に3回、3～15MUの用量でIFN-con₁を投与した患者のALT反応率は、少なくとも

も、3MUのIFN- α 2で認めら●●●ものと同程度に良好であった。

上記に示すように、IFN-con₁による治療は、IFN- α 2による治療と比較して、好ましい効力を示し、薬剤耐性が大きい。

本発明を好ましい実施態様により説明したが、当業者であれば、変更および改善が可能であると理解される。従って、請求の範囲は、請求の範囲で規定した本発明の範囲内であるそのような同等の変更は全て含むものとする。

FIGURE 1

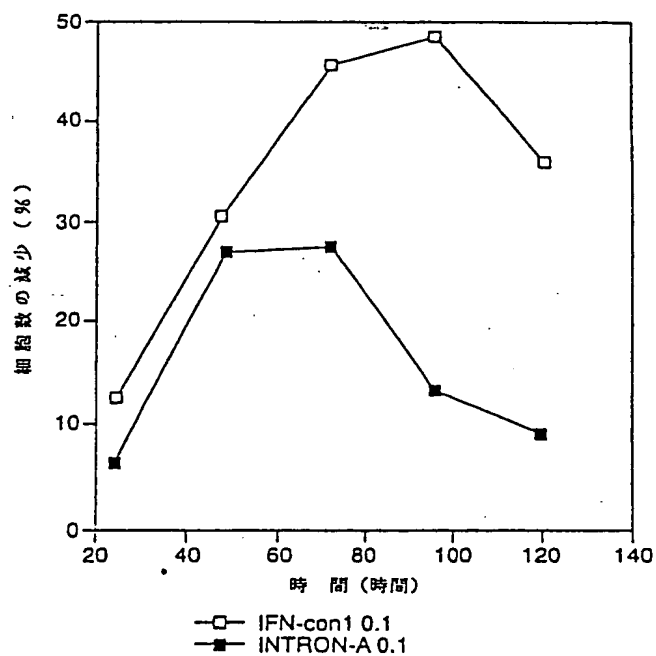


FIGURE 2

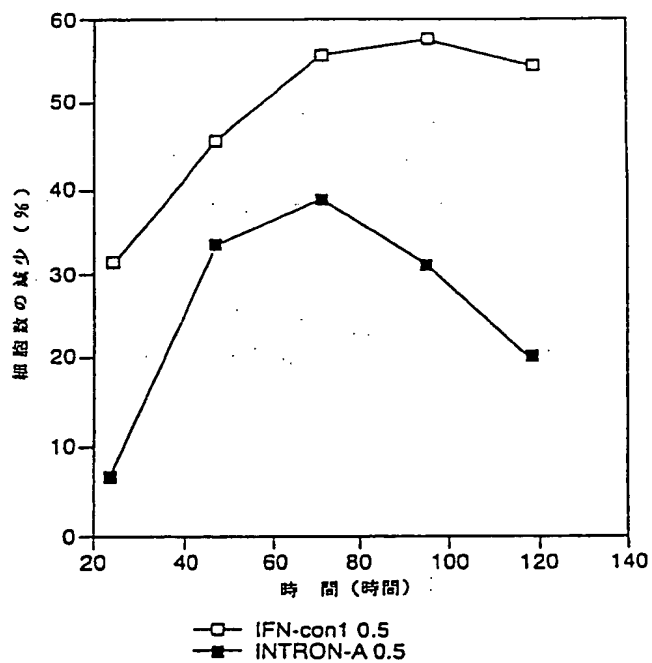


FIGURE 3

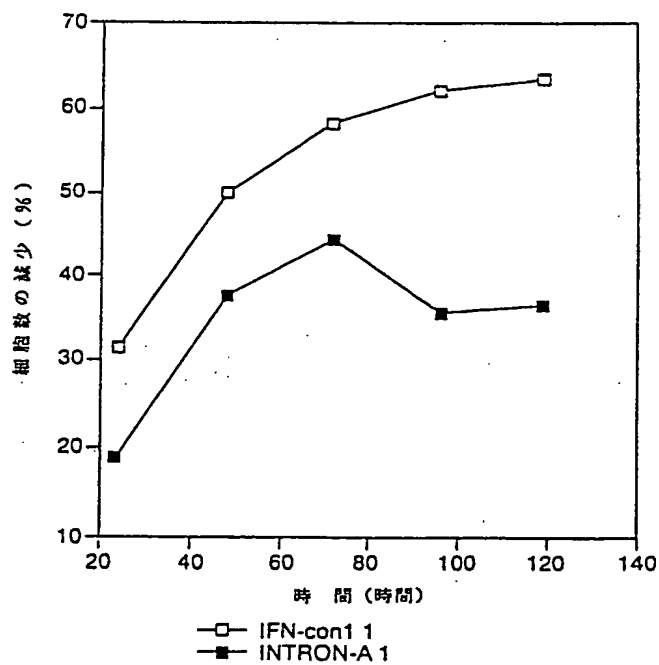


FIGURE 4

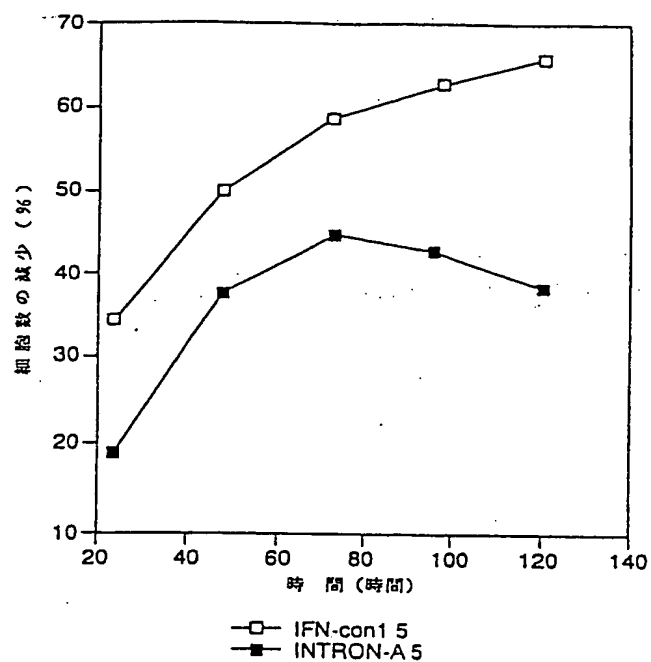


FIGURE 5

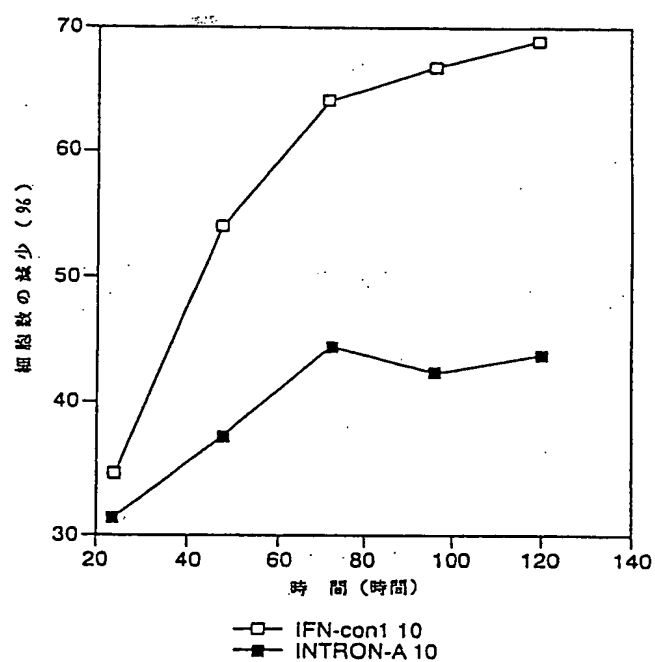


FIGURE 6

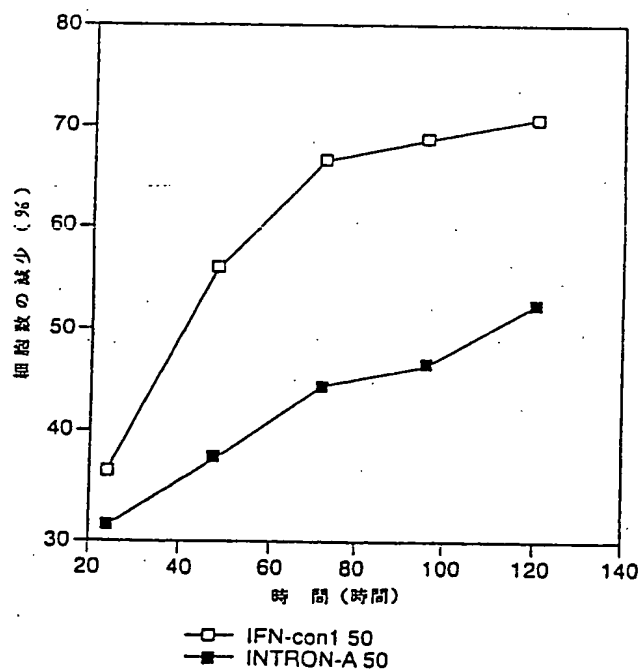


FIGURE 7

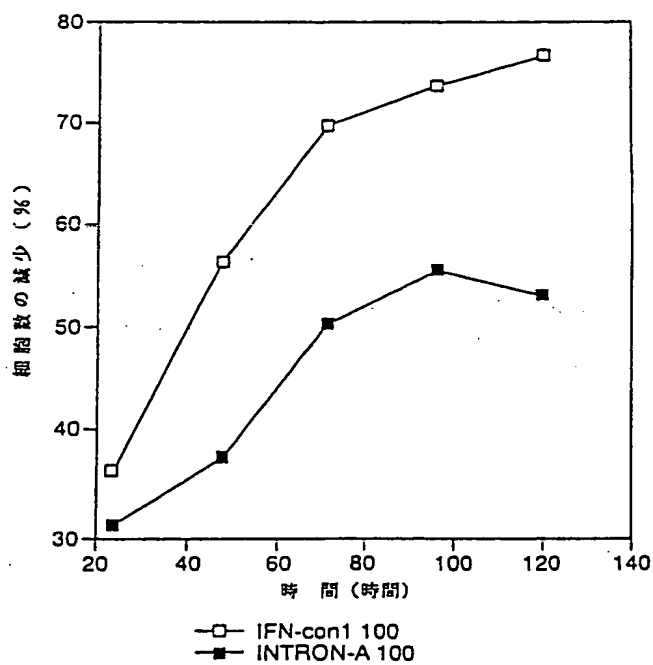
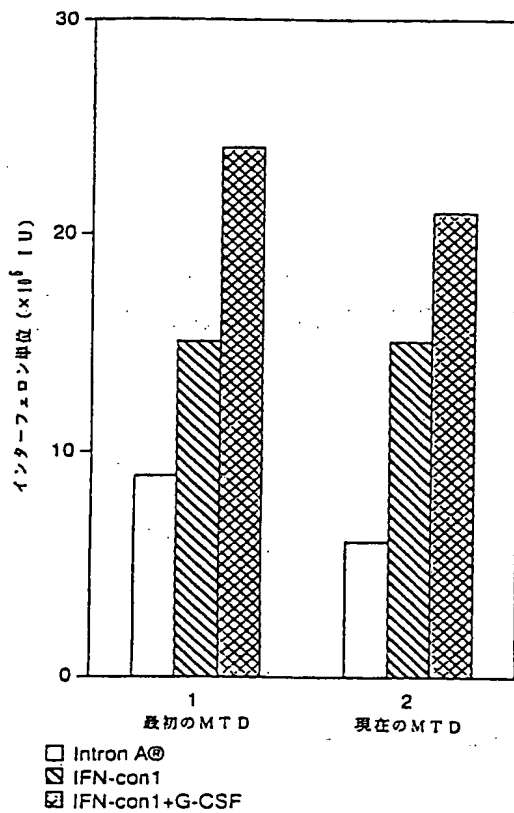


FIGURE 8



国際調査報告

International application No.
PCT/US93/04471

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC Int. Cl. 1979: C12N 15/26
US Cl. 370/331, 424/53.7, 53.4, 53.5

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 370/331, 424/53.7, 53.4, 53.5

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data bases consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

APS, Dialing
search terms: interferon, anti-viral, cell proliferation

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JOURNAL OF INTERFERON RESEARCH, Volume 12, issued February 1992, D.N. Ozes et al., "A Comparison of Interferon-Con1 with Natural Recombinant Interferon-α: Antiviral, Antiproliferative, and Natural Killer-Inducing Activities", pages 55-59, see entire document.	18-23
Y		1-17, 24, 25

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family groups.

A document reflecting the present state of the art which is not considered to be part of the prior art	*A* document reflecting the present state of the art which is not considered to be part of the prior art
B document published on or after the international filing date	*B* document published on or after the international filing date
C document which was drawn to the attention of the applicant or which is known to the applicant at the time of filing the international application	*C* document which was drawn to the attention of the applicant or which is known to the applicant at the time of filing the international application
D document relating to an invention, the disclosure of which is necessary for the understanding of the invention	*D* document relating to an invention, the disclosure of which is necessary for the understanding of the invention
E document which is not a patent document but which is of a technical nature	*E* document which is not a patent document but which is of a technical nature

Date of the actual completion of the international search

27 July 1993

Name and mailing address of the ISA/US

Communication of Patent and Trademark

Box PCT

Washington, D.C. 20531

Fees: NOT APPLICABLE

Form PCT/ISA/210 (Issued along with July 1992)

Date of mailing of the international search report

04 AUG 1993

Authorized officer

SHELLEY GUEST CERMAS

Telephone No. (703) 305-0196

国際調査報告

International application No.
PCT/US93/04471

C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, Volume 11, issued 03 April 1992, J.A. Glaspy et al., "Treatment of Hairy Cell Leukemia with Granulocyte Colony-Stimulating Factor and Recombinant Consensus Interferon or Recombinant Interferon-Alpha-2b", pages 198-205, see entire document.	18-23
Y		1-17, 24, 25

Form PCT/ISA/210 (Continuation of second sheet July 1992)

フロントページの続き

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AT, AU, BB, BG, BR, CA, CH, CZ, DE, DK, ES, FI, GB, HU, JP, KP, KR, LK, LU, MG, MN, MW, NL, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SK, UA

(72) 発明者 テイラー, ミルトン・ダブリュ...
アメリカ合衆国、インディアナ・47401、
ブルーミントン、ブラウン・リッジ・ロード・3712